

氏 名	宮 本 雅 史		
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)		
学 位 記 番 号	第 4769 号		
学位授与年月日	平成 17 年 9 月 29 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当者		
学 位 論 文 名	Effect of Endogenously Generated Nitric Oxide on the Energy Metabolism of Peritoneal Macrophages (腹腔マクロファージのエネルギー代謝と NO 代謝動態)		
論文審査委員	主査 教 授 井 上 正 康	副査 教 授 北 川 誠 一	
	副査 教 授 日 野 雅 之		

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】NOは低酸素下でミトコンドリアの呼吸を可逆性に抑制することが知られている。一方、活性化マクロファージ (Mo) のエネルギー代謝はミトコンドリアと解糖系に依存するが、Mo由来のNOが自己のエネルギー代謝に与える影響はなお不明である。そこで低酸素下に存在する腹腔Moのエネルギー代謝に対するNOの作用を知る目的で本研究を行った。

【方法】wistar系雄性ラットに2%カゼイン溶液を腹腔内投与して腹腔Moを経時的に採取し、その誘導型NO合成酵素 (iNOS) の発現動態をWestern blotting法およびGriess法で解析した。また、ミトコンドリア呼吸に対する内因性及び外因性NOの作用を酸素電極を用い解析した。さらに、Moのエネルギー代謝動態をグルコース消費能、乳酸産生能、細胞内ATPレベルを蛍光ルシフェラーゼ法などを用いて解析した。

【結果】Moは、カゼイン投与0.5日目から腹腔内に遊走しはじめ、2日目にピークとなり、その後は徐々に消失した。炎症初期の0.5日から2日目のMoはiNOSを強く発現し大量のNOを産生していたが、3日目以降のMoはiNOSをほとんど発現していなかった。解析の結果、iNOSを強く発現する1日目のMoのミトコンドリア呼吸は生理的低酸素下で抑制されたが、iNOS阻害剤であるN-iminoethyl-L-Ornithine (NIO)添加により促進された。一方、iNOS活性の弱い4日目のMoでは、低酸素下でも呼吸は抑制されず、NIOによって促進もされないことから、1日目のMoでは内因性NOが呼吸を抑制していることが判明した。両細胞の呼吸は外因性NOにより低酸素下で強く抑制され、ミトコンドリアのNO感受性には差がなかった。ところが、細胞内ATPレベルは外因性NOにより4日目のMoでのみ低下した。また、1日目のMoのグルコース消費、乳酸産生といった解糖系活性は4日目のMoに比して約4倍高かった。

【考察】生理的低酸素下において、iNOSを高発現したMoのATP合成系は、解糖系主導型にシフトしてNOに高い抵抗性を示すが、低発現のMoはミトコンドリア主導型であり、エネルギー産生系がNOによって阻害されやすいことが判明した。これらの所見は、炎症性Moが病巣局所のNO代謝特性に応じて二種類のエネルギー代謝系を使い分けながら生体を有効に防御していることを示唆する。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

NOは低酸素下でミトコンドリアの呼吸を可逆性に抑制することが知られている。活性化マクロファージ (Mo) のエネルギー代謝はミトコンドリア呼吸と解糖系に依存するが、Mo由来のNOが自己のエネルギー代謝に与える影響は不明である。本研究は、生理的低酸素環境の腹腔内Moのエネルギー代謝に対するNOの作用を検討したものである。

Wistar系雄性ラットにカゼイン溶液を腹腔内投与し、腹腔内へ遊送したMoを経時的に採取した。これらのMoの誘導型NO合成酵素 (iNOS) の発現動態、ミトコンドリア呼吸、細胞内ATPレベルと内因性及び外因性NOの作用

をWestern blotting法、酸素電極法、蛍光ルシフェラーゼ法で、また解糖系の活性をグルコース消費能と乳酸産生能により解析した。

腹腔内のMoは、カゼイン投与後12時間頃より増加して2日目にピークとなり、その後徐々に減少した。0.5日から2日目の炎症初期MoはiNOSを強く発現して多量のNOを産生していたが、3日目以降ではほとんど発現していなかった。1日目のiNOS 高発現Moのミトコンドリア呼吸は生理的低酸素下では強く抑制され、iNOS阻害剤の添加で促進された。一方、4日目のiNOS 低発現Moでは、低酸素下でも呼吸は抑制されず、iNOS阻害剤によっても影響されなかった。両細胞の呼吸は外因性NOにより低酸素下で強く抑制されたが、細胞内ATPレベルは4日目のMoでのみ低下した。また、1日目のMoの解糖活性は4日目のMoに比して約4倍高かった。

これらの所見は、炎症初期の浸潤MoではiNOSが高発現して内因性NOが自己のミトコンドリア呼吸を抑制していること、このためにMoのATP合成系が、解糖系主導型にシフトして内因性NOに抵抗性を示すこと、これと比べて炎症後期のiNOS 低発現Moのエネルギー代謝はミトコンドリア主導型であり、NOで阻害されやすいことを示唆する。すなわち、炎症病巣のMoではNO代謝特性の経時的変化に応じて二種類のエネルギー代謝系を使い分け、生体防御反応に必要なATPの供給を常に可能とする制御機構が存在することが判明した。

以上の研究は、生体内における炎症MoのNO代謝病態の研究に寄与するものであり、博士（医学）の学位を授与されるに値するものと判定された。